

マイナークロップにおける高速ウイルス診断技術の実証研究

〔分野〕 畑作・地域作物

〔分類〕 個別・FS型

〔代表機関〕 (国) 琉球大学(植物ウイルス高速診断法開発チーム)

〔参画研究機関〕 (国) 琉球大学、(研) 産業技術総合研究所

(普及担当機関)

〔研究・実証地区〕 沖縄県全域

I 研究の背景・課題

農作物のウイルス病害は、早期発見による感染拡大防止が重要であり、現行の診断では個々のウイルスに特化した個別診断が中心である。新規ウイルスについては、その都度診断方法を確立する必要があり、効率が悪い。網羅的ウイルス検出技術「DECS法」と次世代シーケンズ解析技術を組み合わせることにより、超高感度な検出が可能となったが、ウイルス病害研究の未開拓地であるマイナークロップを対象に、新規ウイルスを探索し、実用性を検証する必要がある。さらに、スマートフォンサイズまで小型化した超高速リアルタイムPCR装置「GeneSoC」を用いて、罹病植物からウイルスおよびウイロイドを検出する技術を確立すれば、簡便・迅速・高感度な個別検出法を農業現場で実用化することができる。さらに、本研究で対象とするマイナークロップの新規ウイルスに実用可能であることを実証できれば、全てのウイルス病害に適用できる。

II 研究の目標

マイナークロップにおける超高速リアルタイムPCR装置「GeneSoC」を用いた簡便・迅速・高感度な植物ウイルスの検定技術の確立。これにより従来のPCR検定によるウイルス診断にかかる時間を80%以上短縮する。新規ウイルスの発見から診断法確立までの期間を大幅に短縮する(およそ2週間)。

III 研究計画の概要

1 マイナークロップにおける高速ウイルス診断法の開発

・中課題(1) 植物組織における高速ウイルス診断法の開発

GeneSoCによるウイルス検定システムを開発する。既知ウイルスを対象として、前処理技術、プライマー設計法について、作業効率性、検出感度、信頼性の観点から検討する。

・中課題(2) マイナークロップにおける網羅的ウイルス検出

罹病作物を用いてDECS法を行いウイルス配列を探索する。沖縄県農業研究センターを通して、沖縄県で発生したパイナップル、ニガウリ、マンゴー、パパイヤなどの罹病植物を提供して頂く。

・中課題(3) マイナークロップにおける個別ウイルス診断法の開発

(2)で見出されたウイルス配列情報を用いて、GeneSoCによるウイルス検定のシステムを構築する。具体的には(1)に関連して、マイナークロップに対する前処理技術、プライマー設計法の検証。

・中課題(4) 実証試験

感染植物を用いて、GeneSoCによるウイルスの検定を分子生物学実験になじみのない大学生でも簡便にウイルスを検出できることを示す。検証結果は(1)および(3)の開発・改良に資する。

マイナークロップにおける高速ウイルス診断技術の実証研究

マイナークロップの未知ウイルス病害において高速診断法を確立する。

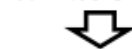
マイナークロップの病害（特にウイルス）の研究はあまりされていない現状。

病原体の同定には時間と労力が必要

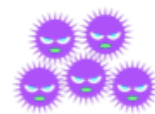
現行のウイルス病害診断では・・・



既知病原体



記録があれば
検出できる



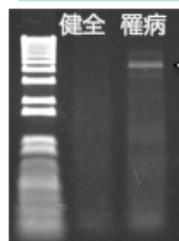
想定外&新規病原体



検出できない

現場のニーズ； 1. 網羅的病原体診断法, 2. 迅速かつ簡便な検出法

キーテクノロジー 1：網羅的RNAウイルス検出技術（DECS法）



ステップ1：ウイルスの感染を検知可能

○ 簡易的

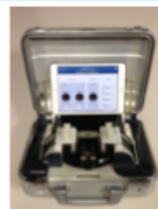
ステップ2：遺伝子情報からウイルス種を同定

○ 検出可能ウイルス種数=無制限

○ 未知のウイルスも検出可能

キーテクノロジー 2：超高速RT-qPCR装置（GeneSoC®）

- ① 高速な遺伝子増幅&検出 5～8分
- ② ポータブル A4アタッシュケースでバッテリー内蔵
- ③ 軽量 約4kg
- ④ 超高感度 10-100個/サンプル
- ⑤ 微量分析 1-5μL
- ⑥ 動物ウイルスで実績あり



1. 網羅的ウイルス検出

(遺伝子情報収集)

↓プライマーデザイン

2. 個別検知技術

(オンサイト高速診断法)

マイナークロップのウイルスをモデルとして実証する

目的：高速ウイルス診断技術の実用化

【琉球大学】マイナークロップにおける新規植物ウイルスの検出
課題：1-(2)マイナークロップにおける網羅的ウイルス検出；1-(4) 実証試験

【産業技術総合研究所】GeneSoCによる高速ウイルス診断技術の植物ウイルスへの応用
課題：1-(1) 植物組織における高速ウイルス診断法の開発；1-(3) マイナークロップにおける個別ウイルス診断法の開発

→ 研究期間1年以内に、それぞれの技術について実証試験までおこなう。

(研) 産業技術総合研究所 (GeneSoCによるウイルス診断法確立)

(1) 植物組織における高速ウイルス診断法

応用

(3) マイナークロップにおける個別ウイルス診断法の開発

(国) 琉球大学 (新規ウイルスの診断法確立)

ウイルス遺伝子配列情報

実証

(2) マイナークロップにおける網羅的ウイルス検出

(4) 実証試験